

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE MICROEMULSÃO CONTENDO EXTRATO SEMIPURIFICADO DE *Trichilia catigua*

Ana Paula Barbosa Catellani (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Daniela Cristina de Medeiros Araújo (Coorientadora), João Carlos Palazzo de Mello (Orientador), e-mail: mello@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Farmácia/Farmacognosia

Palavras-chave: *Trichilia catigua*, microemulsão, estabilidade.

Resumo:

Trichilia catigua é uma planta nativa do Brasil conhecida popularmente como “Catuaba”. Diversos estudos relatam atividades antimicrobianas, antioxidante, antidepressiva, ação afrodisíaca e contra danos cerebrais. Deste modo, neste trabalho foram preparadas formulações de microemulsões contendo fração semipurificada (FAE) das cascas de catuaba. Microemulsões são definidas como uma forma farmacêutica termodinamicamente estável e homogênea, composta por duas fases imiscíveis e é estabilizada com adição de tensoativos. Com o objetivo de aumentar a eficácia terapêutica e amenizar efeitos, foram preparadas nas concentrações de 18,86, 23,53, 28,29 e 37,65 mg/mL de FAE e uma formulação branca como controle. As microemulsões foram submetidas a estudo de estabilidade acelerada (6 meses) em condições de temperatura e umidade de 40 °C e 25%, respectivamente. Em tempos pré-determinados foram realizados os ensaios de viscosidade, densidade, pH, avaliação organoléptica, CLAE e microbiológico. A formulação que apresentou melhor resultado nos testes de controle de qualidade foi a 23,53 mg/mL, a única que permaneceu estável e homogênea até o final do estudo de estabilidade. Além disso, as análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) demonstraram maior concentração de Epicatequina do que Procianidina B2 na formulação de 23,53 mg/mL. Todas as formulações apresentaram crescimento de micro-organismos nos testes microbiológicos, reforçando a necessidade de adição de um conservante a formulação.

Introdução

A *Trichilia catigua* A. Juss. é uma árvore de porte médio nativa do Brasil e membro da família Meliaceae, conhecida popularmente como “Catuaba” ou “Catiguá”. Na medicina tradicional suas cascas são utilizadas como um tônico destinado ao tratamento de fadiga, estresse, impotência e déficit de memória (PIZZOLATTI et al., 2002). As atividades biológicas já descritas da *T. catigua* é baseado nas ações neuroprotetora, inibição de radicais livres, ação anti-inflamatória, antidepressiva, antimicrobiana, antinociceptivo,

antioxidante, as quais estão relacionadas à presença de compostos fenólicos, como flavonoides, taninos e fenilpropanoides (TANG et al., 2007). A fração acetato de etila (FAE) da catuaba apresenta diversos benefícios terapêuticos, porém, a dose terapêutica é alta e sua solubilidade em água não favorece o uso. Deste modo, a microemulsão é uma formulação farmacêutica que melhora a solubilidade em água e aumenta a eficácia terapêutica, por diminuição da dose efetiva, minimiza os efeitos adversos. Desta forma, este trabalho objetivou preparação e caracterização de microemulsão contendo FAE de *T. catigua* e estudo de estabilidade acelerada destas formulações;

Materiais e métodos

O extrato bruto (EB) foi obtido por turbólise em um Ultra-Turrax, com 1,875 kg de cascas secas e moídas de catuaba. Obteve-se 300 g de EB com rendimento de 16%. A fração acetato de etila (FAE) foi realizada por meio de partição líquido-líquido, repetiu-se a partição quatro vezes, resultando 15 g em cada partição com rendimento de 30%, totalizando 60 g de FAE.

O preparo da microemulsão com FAE de *Trichilia catigua* foi realizado de acordo com seguinte formulação:

Fase aquosa: Pesaram-se 6 g de FAE, 21 g de propilenoglicol adicionando aos poucos, mexendo com bastão de vidro, e adicionaram-se 9 g de água e homogeneizou-se.

Mistura de tensoativos: Pesaram-se 90 g de span 80 e 30 g de tween 80 em Becker de plástico e agitou-se no turrax por uma hora.

Técnica de preparo: Pesaram-se 112,2 g da mistura de tensoativos em tubo falcon com tampa. Adicionaram-se 91,8 g de óleo de canola e agitou-se por 2 min no vórtex, em seguida adicionaram-se 36 g de fase aquosa e agitou-se por 2 min no vórtex. Esta formulação rendeu 225 mL.

Deste modo, as microemulsões possuem: **A** 18,82 mg/mL (4,8 g de FAE); **B** 23,53 mg/mL (6,0 g de FAE); **C** 28,23 mg/mL (7,2 g de FAE), e **D** 37,65 mg/mL (9,6 g de FAE).

As análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram realizadas em cromatógrafo UltiMate 3000 em coluna Onix Monolithic. Foram utilizadas as fases móveis: A: água + 1% ácido fórmico; B: acetonitrila + 1% ácido fórmico. Como marcadores foram utilizados epicatequina (EPI, Sigma) e procianidina B2 (PB2, padrão secundário), solubilizados em metanol na concentração de 1 mg/mL. A preparação da análise das microemulsões foram preparadas com 200 µL de amostra diluída em 800 µL de hexano (LONGHINI et al., 2013).

A avaliação organoléptica foi realizada observando cor, odor e aspecto da formulação, comparando com uma formulação branca.

A análise de viscosidade foi realizada em um viscosímetro rotativo (VISCO STAR Plus) acoplado ao spin R2, o pH foi mensurado em um potenciômetro digital (Digimed) calibrado com soluções tampão pH 4,0 e 7,0 na temperatura de 25,0±0,5 °C. A densidade relativa foi avaliada pelo método do picnômetro (de vidro), e a relação entre a massa da amostra e a massa da água ambas a 20 °C, representa a densidade relativa. Todas as análises

de estabilidade acima foram realizadas em triplicatas, em tempos pré determinados durante o estudo de estabilidade acelerado. A análise microbiológica foi realizada através do meio TSA para bactérias e no meio Sabouraud para leveduras, em temperatura de 32 °C, por um período de 5 dias na estufa para prosseguir com a leitura dos resultados.

Resultados e Discussão

As microemulsões foram analisadas durante o tempo 0 (logo após o preparo) e a cada 30 dias até final do estudo.

Na avaliação das características organoléptica as formulações apresentaram-se como homogênea, coloração marrom e odor característico de extrato. No entanto, a microemulsão controle permaneceu homogênea, viscosa, odor fraco e coloração amarelo límpido em todos os meses. A formulação **A** precipitou no 2° mês de análise e a coloração foi escurecendo conforme o tempo, com odor fraco e posteriormente tornou densa. A microemulsão **B** apresentou odor leve, homogênea, coloração marrom e no tempo 6 tornou-se marrom escuro e densa. A formulação **C** apresentou-se heterogênea, odor fraco, inicialmente viscosa e posteriormente densa, coloração vermelho claro e após tornou-se marrom escuro. Por fim, a microemulsão **D** apresentou-se com precipitado, coloração inicial escura e ao tempo 6 estava totalmente preto, tornando-se densa.

O pH da formulação controle variou de 4,36 a 5,57. As microemulsões: **A** variou entre 2,56 a 4,28; **B** variou de 3,74 até 4,46; **C** variou de 1,71 a 3,98 e, **D** variou de 2,57 a 4,25. O pH ideal para formulações destinadas a administração oral é entre 4 a 6 (SALIMI et al., 2013).

A viscosidade das formulações conforme demonstrado na tabela 1, com características de fluido não newtoniano, aumentando a viscosidade ao longo dos meses.

Tabela 1 - Resultado de viscosidade (mPa·s) das microemulsões **A**, **B**, **C** e **D**, contendo extrato semipurificado de *Trichilia catigua*.

Fórmula (mg/mL)	Tempo zero	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Ciclo 4	Ciclo 5
A 18,86	2171922	216991	330066	3304806	335042	3561587
B 23,53	2272113	217621	370313	3723993	406205	3153090
C 28,29	1577610	168288	230638	1170912	287828	3411677
D 37,65	1393562	941276	249233	2818430	316878	
Controle	1972957	130974	306736	2502005	281565	

Não foi possível realizar a análise no ciclo 6 e de algumas formulações no ciclo 5, devido a falta de microemulsão para leitura no viscosímetro.

A densidade ideal de uma microemulsão varia entre 0,99 a 1,02 g/cm³ sendo que, as mesmas também devem aumentar conforme o tempo semelhante as formulações, o controle variou de 0,964 a 0,979 g/cm³. As microemulsões: **A** = 0,979 a 0,999 g/cm³; **B** = 0,978 até 0,991 g/cm³; **C** = 0,957 a 0,987 g/cm³ e, **D** = 0,969 até 1,00 g/cm³ (ZHANG et al., 2020).

Na CLAE foi possível quantificar os marcadores EPI e PB2 presentes na FAE. A formulação **A** apresentou: EPI no tempo 0 com 123,413 e 3,2510 µg/mL no

tempo 6; PB2 no tempo 0 com 93,3554 e 11,619 µg/mL no tempo 2. A formulação **B** apresentou: EPI no tempo 0 com 251,18 e 42,558 µg/mL no tempo 6; PB2 no tempo 0 com 151,149 e 22,447 µg/mL no tempo 5. A microemulsão **C** apresentou: EPI no tempo 0 com 262,832 e 46,498 µg/mL no tempo 6; PB2 no tempo 0 com 216,597 e 23,540 µg/mL no tempo 6. A microemulsão **D** apresentou: EPI no tempo 1 com 112,140 e 192,133 µg/mL no tempo 5; PB2 nos tempos 1 e 6 com 78,552 e 208,547 µg/mL no tempo 3. Desse modo pode-se observar que há mais EPI presente do que PB2 e, indicam que geralmente os valores decaem conforme o tempo.

Análise microbiológica foi realizada em TSA para bactérias e Sabouraud para fungos. O controle permaneceu estável sem contaminação de bactérias, porém a partir do tempo 4 apresentou contaminação por leveduras. A microemulsão **A** apresentou contaminação por bactérias em todos os meses, enquanto que fungos cresceram após o primeiro mês. A formulação **B** demonstrou contaminação de fungos e bactérias durante todos os meses. Já as microemulsões **C** e **D** apresentaram contaminação por bactérias em todos os meses e, não apresentaram fungos apenas nos tempos 0 e 1. Desse modo, certifica que a presença da FAE deixa a microemulsão suscetível a contaminação visto que não é estéril.

Conclusões

De acordo com as análises realizadas durante o estudo de estabilidade acelerada, a microemulsão que apresentou melhores resultados foi a de 23,53 mg/mL visto que permaneceu homogênea durante os meses. Esta formulação foi escolhida para continuidade do projeto, com estudos *in vivo*, em ratos.

Agradecimentos

Agradeço ao João C. P. Mello e a Daniela C. M. Araújo por me guiarem durante o projeto e ao CNPq-FA-UEM pela bolsa concedida.

Referências

Longhini, R., Klein, T., Bruschi, M.L., da Silva, W.V., Rodrigues, J., Lopes, N.P., de Mello, J.C. Development and validation studies for determination of phenylpropanoid-substituted flavan-3-ols in semipurified extract of *Trichilia catigua* by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. **Journal of Separation Science**, v.36, p.1247–1254, 2013

Pizzolatti, M.G., Venson, A.F., Smânia, A.J., Smânia, E.F.A., Braz-Filho, R. Two epimericflavalignans from *Trichilia catigua* (Meliaceae) with antimicrobial activity. **Zeitschrift für Naturforschung-C**, v.57, p.483–488, 2002.

Tang, W., Hioki, H., Harada, K., Kubo, M., Fukuyama, Y. Antioxidant phenylpropanoid-substituted epicatechins from *Trichilia catigua*. **Journal of Natural Products**, v.70, p.2010–2013, 2007.